

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi *Jatropha gossypifolia* L (Jarak Merah)

Jarak merah (*Jatropha gossypifolia* L.) merupakan tanaman etnobotani yang dapat dijadikan sebagai sumber obat tradisional. Beberapa pemanfaatan jarak merah dari jaringan misalnya biji digunakan sebagai obat pencahar. Namun, beberapa literatur mengatakan bahwa penggunaan biji jarak sebagai obat herbal dilarang karena toksisitasnya yang tinggi.

2.1.1 Klasifikasi *Jatropha gossypifolia* L

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyta Sub
Devisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub Kelas	: Apetalae
Ordo	: Euphorbiales (Tricoccae)
Family	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha gossypifolia</i> L
Sinonim	: <i>Adenoropium gossypifolium</i> (L.) Pohl.



(A)

(B)

Gambar 2.1 (A) akar *Jatropha gossypifolia* L. dan (B) daun *Jatropha gossypifolia* L. (Singh dan Sharma, 2013)

2.1.2 Nama Daerah

Tanaman *Jatropha Gossypifolia* L. di beberapa daerah dikenal dengan nama jarak ulung (lampung), jarak kostamerah, jaraklandi, jarak cina (jawa), kalake bacu, kalake jarak (madura) (Hidayat dan Napitulu, 2015).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Jarak merah (*Jatropha gossypifolia* L.) tergolong kedalam kelompok tanaman berdaun tidak lengkap. Hal ini karena pada bagian daunnya hanya memiliki petiolus (tangkai daun) dan lamina (helaian daun). Daunnya berbentuk orbicularis (bulat), memiliki intervenium (daging daun) yaitu tipis lunak (herbaceus), bagian pinggir daun bergerigi, ujung daun meruncing (acuminatus). Karena pada titik pertemuan kedua tepi daunnya jauh lebih tinggi dibandingkan dengan ujung daun yang berbentuk runcing (acutus), dan ujung daun nampak sempit memanjang dan runcing. Daun diatur secara bergantian (panjang 4,5-10 cm dan lebar 5-13 cm) memiliki tiga atau lima lobus dan susunan tulang daun menjari. Daun berwarna keunguan dan tertutup glandular, tetapi biasanya berubah hijau terang dengan bertambahnya usia mereka. Ujung daun runcing berada pada tangkai daun, panjang 6-9 cm seluruh bagian daun ditutupi glandular (Silva dkk, 2014).

Semak Tegak atau pohon kecil biasanya tumbuh 1-3 m, tetapi kadang-kadang tinggi mencapai 4 m. Pada musim kemarau akan menggugurkan daunnya. Batang kayu, semakin tua, semakin bagus, atau batang semakin lembut. Batang yang semakin tua akan mengandung getah berair dan berbusa. Cabang-cabang muda berwarna keunguan dan ditutupi oleh rambut-rambut halus yang rapat (Silva dkk, 2014).

Bunganya kecil-kecil bergerombol atau berkelompok dan bercabang. Cabang utama dari masing-masing tandan bunga memiliki panjang sekitar 10-15 cm, warna keunguan dan ditutupi glandular. Ada bunga Jantan atau betina (yaitu berkelamin tunggal) yang ada pada kelompok bunga tersebut. Mayoritas berbunga jantan dan memiliki 8-12 benang sari kuning, sedangkan bunga inti pada setiap cabang dari tandan adalah bunga betina. Pada setiap kelompok tandan, biasanya ada 2-8 bunga betina dan 27-54 bunga jantan di setiap tandan bunga. Semua bunga memiliki lima

kelopak berwarna ungu kemerah-merahan dan lima kelopak daun kecil. Biasanya berbunga sepanjang tahun, tapi sebagian besar pada akhir musim panas atau musim kemarau (Silva dkk, 2014).

Buah berbentuk kapsul memiliki sekitar lobus yang berbentuk oval atau lonjong dan sedikit berbulu (puberulent). Bentuknya oval atau lonjong dan memiliki ukuran sekitar 12-13 mm dan 10 mm lebar dan biasanya berisi tiga biji besar. Buah ini awalnya berwarna hijau mengkilap, tetapi berubah menjadi cokelat jika semakin tua. Berbentuk agak bulat, dan memiliki , dan memiliki biji dengan ukuran panjang 7-8 mm dan lebar sekitar 4 mm berwarna coklat oranye-coklat atau warna gelap (Silva dkk, 2014).

2.1.4 Ekologi Tanaman

Tumbuhan jarak merah merupakan tanaman semak berkayu yang ditemukan di daerah tropis dan dikenal sangat tahan dengan kekeringan, serta mudah dikembangbiakkan dengan cara stek. Tumbuhan ini mudah beradaptasi dengan lingkungan tumbuhnya. Dapat tumbuh pada tanah yang subur tetapi memiliki drainase atau penyaluran air yang baik, tidak tergenang, dan memiliki pH tanah 5,0 sampai 6,5. Tumbuhan jarak dapat tumbuh pada ketinggian sekitar 20 m dari permukaan laut dan merupakan tanaman tahunan, dapat ditemukan pada daerah curah hujan 750-2000 mm curah tahunan, tumbuh pada kelembaban kejenuhan basah tinggi dan hidup pada temperatur 20°C-30°C sepanjang hidupnya (Silva dkk, 2014).

2.1.5 Aktivitas Biologi dan Kandungan *Jathropa gossypifolia* L

Tanaman *Jathropa gossypifolia* L sering digunakan dalam pengobatan tradisional di India. Bagian akar dan daun digunakan untuk mengobati disentri, anemia, biliousness dan ulkus. Ekstrak tanaman *Jathropa gossypifolia* L sebagai pencakar, mengatasi muntah, mengobati sakit kepala, penyakit kelamin, luka pada kulit, luka pada mulut, mengobati sakit perut, dan sebagai stimulan. Daun, biji dan akar digunakan untuk menurunkan demam, obat bisul, eksim, dan gatal-gatal. Lateks pada tanaman ini digunakan untuk mengobati maag, penyakit kulit atau kusta, dan infeksi gusi (Bhagat and Kulkarni, 2014).

Beberapa kajian farmakologi telah dilakukan terhadap *Jathropa gossypifolia* L diantaranya ialah pengujian ekstrak daun terhadap 6 jenis mikroorganisme diantaranya adalah *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Kumar dkk, 2006). Ekstrak etanol dari jarak merah dapat mengakibatkan efek vaksorelaksan terhadap tikus dalam keadaan normal. Jatrofenon adalah senyawa yang berhasil diisolasi dari akar jarak merah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang daya kerjanya sebanding dengan Penicilin G (Ravinadrath dkk, 2003). Beberapa senyawa telah berhasil di isolasi dari jarak merah yaitu alkaloid jatroiden, isogadin, cleomiscosin, propasin, clilatrione, jatrofenon, jatrofolo AB, fraxetin, cycologosine AB dan 18 senyawa ekstrak lipid dari daun (Silva dkk, 2014).

Berbagai kandungan kimia telah terdeteksi dalam ekstrak dari berbagai bagian *Jathropa gossypifolia* L dari berbagai literatur telah dilaporkan pada umumnya mengandung, asam lemak, gula, alkaloid, asam amino, coumarin, steroid, flavonoid, lignan, protein, saponin, tanin, dan terpenoid.

Bagian akar *Jathropa gossypifolia* L mengandung berbagai senyawa kimia seperti tanin, flavanoid, polofenol, saponin, steroid dan banyaksenyawa kimia lainnya yang memiliki berbagai khasiat. Berdasarkan hasil penelitian Bhagat dan Kulkarni (2014) pada akar *Jathropa gossypifolia* L dari berbagai senyawa kimia tersebut menunjukkan adanya senyawa yang memiliki khasiat sebagai antibakteri.

Ekstrak metanol dari akar jarak merah secara signifikan menurunkan kadar glukosa plasma (Singh, 2013). Akar jarak merah juga memiliki aktivitas farmakologi sebagai antihipertensi, antimikroba dan antiinflamasi. Senyawa diterpenoid yang berhasil di isolasi juga memiliki aktivitas biologis seperti sitotoksik, antikanker, gastroprotektif dan molluscicidal (Sabandar dkk, 2013; Silva dkk, 2014).

Bagian akar *Jatropa gossypifolia* L mengandung berbagai senyawa kimia seperti tanin, flavonoid, polifenol, saponin, steroid dan banyak senyawa kimia lainnya yang memiliki berbagai khasiat. Berdasarkan hasil penelitian akar *Jatropa gossypifolia* L dari berbagai senyawa kimia tersebut menunjukan adanya senyawa kimia yang memiliki khasiat sebagai antibakteri.

Tabel II.1 Senyawa yang terkandung dalam akar *Jatropha gossypifolia* L dengan analisis kualitatif (Bhagat and Kulkarni, 2014).

No.	Nama untuk Phtoconstituent	Hasil
1.	Protein	+
2.	Lemak	+
3.	Pati	+
4.	Tannin	+
5.	Flavanoid	+
6.	Polifenol	+
7.	Alkaloid	+
8.	Saponin	+
9.	Steroid	+
10.	Lignin	+
11.	Karbohidrat	+

Tabel II.2 Senyawa yang terkandung dalam akar *J.Gossypifolia* L dengan analisis kuantitatif (Bhagat and Kulkarni, 2014).

No	Nama untuk Phytoconstituent	Hasil
1.	Karbohidrat (%)	14,50 ± 0,97
2.	Protein (%)	4,34 ± 0,03
3.	Pati (%)	2,76 ± 0,64
4.	Alkaloid(%)	1,16 ± 0,05
5	Flavanoid (IC ₅₀ µg/ml)	31,66 ± 0,2
6	Polifenol (IC ₅₀ µg/ml)	10,54 ± 0,04
7	Tanin (%)	2,37 ± 2,60

Kandungan senyawa diterpenoid (citlalitrione dan jatrofenon) diisolasi dari keseluruhan tanaman *Jatropha gossypifolia* L. Senyawa kumarin-lignoid juga diperoleh secara keseluruhan yaitu propasin (Duke, 1985; Das dkk, 2003; Oduola,

2005). Pada bagian daun *Jatropha gossypifolia* L juga memiliki beberapa komposisi kimia ekstrak lipid dari daun *Jatropha gossypifolia* L telah diidentifikasi menggunakan GC-MS (Sonibare dan Akhrame, 2008).

Tabel II.3. Komposisi kimia ekstrak lipid dari daun *Jatropha gossypifolia* L

Nama Senyawa	Komposisi	Kelimpahan Relatif (%)
Asam propanoat	$C_3H_6O_2$	0.9
Gliserol	$C_3H_8O_3$	12.0
Asam 2-pentenoat	C_5H_8O	13.7
Arabitol	$C_5H_{12}O_5$	12.3
3,7,11,15-tetrametil-2-heksadeken-1-ol	$C_{20}H_{40}$	2.0
D-Xylofuranosa	$C_5H_{10}O_5$	n.d
D-mannitol	$C_6H_{14}O$	0.7
Asam heksadekanoat	$C_{16}H_{32}O_2$	7.8
Inositol	$C_6H_{12}O_6$	n.d
Asam oleat	$C_{18}H_{34}O_2$	6.3
Asam oktadekanoat	$C_{18}H_{36}O_2$	2.7
Oktakosan	$C_{28}H_{58}$	n.d
Oktakosanol	$C_{28}H_{58}O$	2.3
Stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	2.5
α -Sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	8.8
α -Amyrin	$C_{30}H_{50}O$	n.d
Lup-20(29)-en-3-on	$C_{30}H_{48}O$	n.d
Betulin	$C_{30}H_{50}O_2$	n.d

2.2 Deskripsi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus bersifat aerob atau anaerob fakultatif, tes katalase positif dan tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi (halofilik), misalnya NaCl 10% (Dzen dkk, 2003).

Staphylococcus aureus bersifat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menimbulkan gas. Bakteri tersebut dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan karena kemampuannya menghasilkan banyak zat ekstraselular (Jawetz dkk, 2005). Zat ekstraselular tersebut adalah :

a) Eksotoksin

Suatu campuran termolabil yang dapat disaring dan dimatikan bagi binatang pada penyuntikan, menyebabkan nekrosis pada kulit dan mengandung beberapa hemolisin yang dapat larut dan dipisahkan dengan elektroforesis (Jawetz dkk, 2005).

b) Leukosidin

Suatu zat yang dapat larut dan mematikan sel darah putih dari berbagai spesies binatang yang kontak dengannya (Jawetz dkk, 2005).

c) Enterotoksin

Suatu zat yang dapat larut yang dihasilkan oleh strain tertentu, merupakan penyebab penting keracunan makanan (Jawetz dkk, 2005).

d) Koagulase

Staphylococcus aureus mampu menghasilkan koagulase, yaitu suatu enzim yang dapat menggumpalkan plasma atau serat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat pada serum. Faktor koagulase reaktif serum beraksi dengan koagulase untuk menghasilkan entorase dan aktivitas pembekuan dengan cara yang sama seperti pengaktifan protrombin menjadi trombin. Koagulase dapat mengendapkan fibrin pada permukaan *Staphylococcus aureus* (Jawetz dkk, 2005).

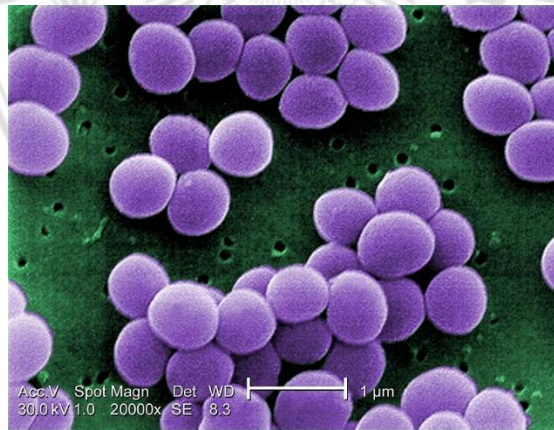
e) Enzim lain

Zat lain yang dihasilkan adalah hialuronidase adalah faktor penyebar staphylokinase yang mengakibatkan fibrinolisis tetapi bekerja lebih lambat daripada streptokinase, lipase dan betalaktamase, toksin eksfoliatif yang menyebabkan

sindroma lepuh kulit. Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ini terutama menimbulkan penyakit pada manusia. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat diinfeksi olehnya dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa suatu piemia yang fatal. Kecuali impetigo, umumnya kuman ini menimbulkan penyakit yang bersifat sporadik bukan epidemik (Jawetz dkk, 2005).

2.2.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Domanin	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.2 Mikroskopik *Staphylococcus aureus* (Hinson, 2017)

2.2.2 Morfologi Bakteri

Staphylococcus aureus berbentuk bulat (speres) atau kokus dengan diameter 0,4-1,2 μm (rata-rata 0,8 μm) (Dzen dkk, 2003). *Staphylococcus aureus* tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada

perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Purnomo dkk, 2006).

2.2.3 Sifat Pewarnaan

Hasil pewarnaan berasal dari pembedahan pembedahan padat akan memperlihatkan susunan bakteri yang bergerombol seperti buah anggur, sedangkan yang berasal dari pembedahan cair bisa terlihat bentukan kuman yang lepas sendiri-sendiri, berpasangan atau rantai pendek yang pada umumnya terdiri lebih dari empat sel (Dzen dkk, 2003).

2.2.4 Patogenitas

Staphylococcus aureus merupakan contoh patogen yang sukses beradaptasi. Hal ini diperlihatkan dengan kemampuan mengkoloni dan mengambil atau mentransfer materi genetik yang membawa berbagai faktor virulensi. Faktor virulensi *Staphylococcus aureus* dikelompokkan menjadi dua yaitu surface associated factor yang bertanggung jawab terhadap pengenalan reseptor, perlekatan dan penghindaran dari sistem imun. Faktor kedua adalah secreted factor yang dapat berinteraksi dengan zat / substansi milik *host* dan menyebabkan kerusakan jaringan. Sebagian mekanisme faktor virulen telah berhasil dijelaskan sedangkan sebagian lagi masih tetap menjadi misteri, yang pasti bahwa keseluruhan faktor virulen tersebut bekerja dalam suatu sistem jaringan yang kompleks. Patogenesis infeksi MRSA sebagai salah satu galur *Staphylococcus aureus* dan hubungan factor resistensi MRSA dengan peningkatan virulensi.

2.3 Tinjauan Umum Infeksi

Infeksi merupakan suatu keadaan mikroorganisme tumbuh dan mengalahkan sistem pertahanan tubuh. Mikroorganisme ini akan merusak tubuh yang bersifat patogen berkembang biak dan mengakibatkan terjadinya infeksi. Infeksi bakteri (bakterimia) tersebut mengakibatkan bakteri tumbuh di jaringan dan akan terdeteksi didalam darah (James dkk, 2008).

Penyakit infeksi dapat timbul dengan beberapa penyebab, salah satunya adalah mikroba patogen seperti bakteri, virus, jamur, dan lain-lain. Penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen ini disebut penyakit infeksi. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroba patogen dan bersifat sangat dinamis. Mikroba sebagai makhluk hidup tentunya ingin bertahan hidup dengan cara berkembang biak pada suatu reservoir yang cocok dan mencari reservoir baru dengan cara berpindah atau menyebar (Darmadi, 2008).

Secara umum proses terjadinya penyakit melibatkan tiga faktor yang saling berinteraksi yaitu, faktor penyebab penyakit yang sering disebut agen (*agent*), faktor manusia yang sering disebut pejamu (*host*) dan faktor lingkungan. Dalam garis besarnya, mekanisme transmisi mikroba patogen ke pejamu yang rentan (*susceptable host*) melalui dua cara yaitu, transmisi langsung (*direct transmission*) dan transmisi tidak langsung (*indirect transmission*) (Darmadi, 2008).

2.3.1 Infeksi *Staphylococcus aureus*

Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae. Pneumonia yang disebabkan *Staphylococcus aureus* sering merupakan suatu infeksi sekunder setelah infeksi virus influenza. *Staphylococcus aureus* dikenal sebagai bakteri yang paling sering mengkontaminasi luka pasca bedah sehingga menimbulkan komplikasi. Sumber pencemaran pada infeksi pasca bedah ini diantaranya berasal dari penderita carrier yaitu dokter, perawat atau petugas kesehatan yang terlibat dalam perawatan dan pembedahan pasien dan peralatan medis yang terkontaminasi. Bila terjadi bakteremia, infeksi dapat bermetastasis ke berbagai organ (Deleo, 2009).

Infeksi *Staphylococcus aureus* diasosiasikan dengan beberapa kondisi patologi, diantaranya bisul, jerawat, pneumonia, meningitis, dan arthritis. Sebagian

besar penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini memproduksi nanah, oleh karena itu bakteri ini disebut piogenik (Madigan dkk, 2008).

2.3.2 Terapi

Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab infeksi pada manusia ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif yang tinggi. Artinya obat itu harus bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Setiabudy, 2012). Kelas antibiotika berdasar sifat aktifitasnya yaitu bakteriostatik dan bakterisid. Bakteriostatik yang memiliki sifat menghalangi bakteri berkembang biak, tetapi tidak membunuhnya, contohnya kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, linkomisin, klindamisin, rifampisin, sulfonamid, trimetoprim, spektinomisin, metenamin mandelat, asam nalidiksida dan asam oksolinik nitrofurantoin. Bakterisid memiliki sifat untuk membunuh bakteri, contohnya penisilin, sefalosporin, aminoglikosida, polimiksin, vankomisin, basitrasin, sikloserin.

Pilihan antimikroba berdasarkan *education guess* yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yaitu; amoksisilin, asam klavulanat, kloksasilin, sefalosporin generasi I dan generasi III, eritromisin, penisilin G, kloramfenikol dan metronidazol (Setiabudy, 2012).

Hampir semua isolat *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penisilin G (benzylpenicillin). Hal ini disebabkan enzim β -laktamase yang dapat merusak struktur β -laktam pada penisilin. Untuk mengatasi hal ini, dapat digunakan penisilin yang bersifat resisten β -laktamase, contohnya oxacillin, nafcillin, dicloxacillin, cephalothin, cephaloridine, dan cefazolin (Blomquist, 2006). Sebagian isolat *Staphylococcus aureus* resisten terhadap methisilin karena adanya modifikasi protein pengikat penisilin. Protein ini mengkode peptidoglikan transpeptidase baru yang mempunyai afinitas rendah terhadap antibiotik β -laktam, sehingga terapi β -laktam tidak responsif (Blomquist, 2006). Salah satu contoh antibiotik yang digunakan terhadap MRSA adalah vankomisin (Blomquist, 2006).

Pada penelitian ini obat antimikroba yang digunakan adalah kloramfenikol yang berfungsi sebagai kontrol positif. Mekanisme kerja kloramfenikol diduga dengan cara masuk ke dalam sel sensitif bakteri dengan cara transpor aktif. Di dalam

sel ia mengikat secara reversible unit ribosom 50S dari bakteri ribosom cara kerjanya hampir sama dengan macrolides dan clindamycin, yang menghambat bakteri sintesis protein dengan mencegah ikatan asam amino yang mengandung ujung aminoasil t-RNA dengan salah satu tempat berikatannya di ribosom dengan demikian pembentukan ikatan peptida dihambat selama obat berikatan dengan ribosom. kloramfenikol juga dapat menghambat sistesis protein mitokondria sel mamalia karena ribosom mitokondria mirip dengan ribosom bakteri (Sweetman, 2009). Kloramfenikol umumnya bersifat bakteriostatik. Pada konsentrasi tinggi kloramfenikol kadang bersifat bakterisid terhadap kuman-kuman tertentu (Setiabudy, 2012).

2.4 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971). Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Setiabudy, 2012).

Berdasarkan spektrumnya antibakteri dibagi menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit, dan berspektrum luas. Zat antibakteri dikatakan berspektrum luas apabila obat tersebut efektif melawan berbagai jenis atau golongan, baik membunuh atau menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Sedangkan antibakteri berspektrum sempit, hanya efektif melawan bakteri dalam jumlah terbatas atau satu golongan baik bakteri gram positif atau bakteri gram negatif. (Yanling dkk, 2013).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antibakteri dibagi menjadi lima kelompok yaitu; (1) yang mengganggu metabolisme sel bakteri, (2) yang menghambat sintesis dinding sel bakteri, (3) yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, (4) yang menghambat sintesis protein sel bakteri, (5) yang menghambat sintesa atau merusak asam nukleat sel bakteri (Setiabudy, 2012).

- (1) Mengganggu metabolisme sel bakteri yaitu menghambat kerja enzim dengan mengganggu reaksi biokimiawi sehingga metabolisme sel terganggu.
- (2) Menghambat sintesis dinding sel bakteri yaitu menghambat pembentukan dan mengubahnya setelah selesai terbentuk.
- (3) Mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yaitu dengan merusak membran sel. Fungsi membran sel adalah mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Adanya kerusakan pada membran ini mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat atau mati.
- (4) Menghambat sintesis protein sel bakteriyaitu dengan cara mendenaturasi protein dan asam nukleat sehingga kerusakan sel tidak dapat diperbaiki lagi karena hidup suatu sel tergantung pada molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah.
- (5) Menghambat sintesa atau merusak asam nukleat sel bakteri yaitu mengganggu pembentukan fungsi DNA, RNA, dan protein sehingga mengakibatkan kerusakan total pada sel, karena zat-zat tersebut memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel (Pelczar dan Chan, 2005).

Berdasarkan gugus kimianya sebagai berikut (Katzung, 2010)

A. Senyawa beta-laktam dan penghambat sintesis dinding sel lainnya.

Mekanisme aksi penisilin dan antibiotika yang mempunyai struktur mirip dengan β -laktam adalah menghambat pertumbuhan bakteri melalui pengaruhnya terhadap sintesis dinding sel. Dinding sel ini tidak ditemukan pada sel-sel tubuh manusia dan hewan, antara lain: golongan penisilin, sefalosporin dan sefamisin serta betalaktam lainnya.

B. Kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida, klindamisin dan streptogramin.

Golongan agen ini berperan dalam penghambatan sintesis protein bakteri dengan cara mengikat dan mengganggu ribosom, antara lain: kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida, klindamisin, streptogramin, oksazolidinon.

C. Aminoglikosida

Golongan Aminoglikosida, antara lain: streptomisin, neomisin, kanamisin, amikasin, gentamisin, tobramisin, sisomicin, etilmicin, dan lain-lain.

D. Sulfonamida, trimethoprim, dan quinolones.

Sulfonamida, aktivitas antibiotika secara kompetitif menghambat sintesis dihidropteroat. Antibiotika golongan Sulfonamida, antara lain Sulfasitin, sulfisoksazole, sulfamethizole, sulfadiazine, sulfamethoksazole, sulfapiridin, sulfadoxine dan golongan pirimidin adalah trimethoprim. Trimethoprim dan kombinasi trimetoprim-sulfametoksazol menghambat bakteri melalui jalur asam dihidrofolat reduktase dan menghambat aktivitas reduktase asam dihidrofolik protozoa, sehingga menghasilkan efek sinergis. Fluoroquinolon adalah quinolones yang mempunyai mekanisme menghambat sintesis DNA bakteri pada topoisomerase II (DNA girase) dan topoisomerase IV. Golongan obat ini adalah asam nalidiksik, asam oksolinat, sinoksasin, siprofloksasin, levofloksasin, slinafloksasin, enoksasin, gatifloksasin, lomefloksasin, moxifloksasin, norfloksasin, ofloksasin, sparfloksasin dan trovafloksasin dan lain-lain.

2.4.1 Golongan Senyawa yang Mempunyai Aktivitas Antibakteri

(1) Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang memiliki beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut sehingga tidak dipengaruhi oleh enzim proteolitik (Husien, 2014).

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Senyawa tanin ini banyak dijumpai pada tumbuhan. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Mekanisme kerja tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mati (Ajizah, 2004). Tanin juga

mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Masduki, 1996). Contoh dari senyawa tanin adalah proantosianidin, galotanin, elagitanin, katein, dan galokatekin (Harborne, 1987).

(2) Flavanoid

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol di alam (Harborne, 1987). Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina 2008). Contoh dari senyawa flavanoid adalah antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavon, khalkhon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).

(3) Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman. Berdasarkan struktur kimianya, saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas utama yaitu kelas steroid, kelas steroid alkaloid, dan kelas triterpenoid. Sifat yang khas dari saponin antara lain berasa pahit, berbusa dalam air. Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang merupakan komponen utama biji pepaya (*Carica papaya* L.) (Sukadana, 2008). Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rachmawati, 2011). Contoh senyawa saponin adalah asparagosida dan asiatosida (Harborne, 1987).

(4) Alkaloid

Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina, 2008). Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino. sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan 9 genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Setiabudy, 2012). Contoh dari senyawa ini adalah berberina, morfina, atropina, nikotina, galantamina, solanina, dan kuinina (Harborne, 1987).

(5) Polifenol

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus phenol di ddalam molekulnya. Polifenol sering terdapat dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar (Hossttetman dkk, 1985). Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan seperti lignin, melanin, tanin adalah senyawa polifenol dan kadang-kadang satuan fenolitik dijumpai pada protein, alkaloid, dan terpenoid. (Harbone, 1987). Polifenol berkhasiat sebagai antimikroba karena mekanisme polifenol sebagai antimikroba yaitu sebagai toksin dalam protoplasma yang dapat menembus dan merusak dinding sel bakteri dan mengendapkan protein sel bakteri sehingga mengakibatkan kematian sel (Cowan, 1999).

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri Secara *In vitro*

2.5.1 Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhri dilarukan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan (Jawetz dkk, 2001). Metode ini digunakan untuk menentukan KHM

(kadar hambat minimal) dan KBM (kadar bunuh minimal) dari obat antimikroba (Dzen dkk, 2003).

a). Metode dilusi tabung

Prinsip metode ini : menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing – masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen dkk, 2003).

b). Metode dilusi agar

Prinsip metode ini : suatu antimikroba dengan konsentrasi biasa dimasukkan kedalam lempengan agar padat. Setiap lempengan agar dapat menetes banyak isolat yang berlainan. Isolat berlainan ditempatkan pada permukaan lempengan agar dan diinkubasi. Jika isolatnya sensitif terhadap konsentrasi antibiotika yang dites maka ia akan tumbuh dan akan terlihat suatu koloni pertumbuhan bakteri (Edberg dkk, 1986).

Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai yakni menggunakan microdilution plate. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz dkk, 2001).

2.5.2 Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Kemudian

diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Jawetz dkk, 2001; Dzen dkk, 2003).

Prinsip tes difusi cakram menghasilkan kategori sensitivitas terhadap antibakteri dari cakram kertas di dalam agar. Nilainya dilaporkan dalam istilah organisme yang sensitif (S), resisten (R), dan intermediate (I), yang didasarkan pada parameter penghambatan daripada sidal. Suatu isolat dapat di tes terhadap banyak obat antimikroba pada satu saat dengan pengeluaran tenaga kerja yang rendah. Tes difusi cakram juga dikenal sebagai tes Kirby-Baurer, menjadi cara yang sering digunakan untuk tes kerentanan antimikroba (Edberg, 1986).

Media yang harus digunakan adalah agar Mueller-Hinton dengan timidinkinase dan penyesuaian dalam kalsium dan magnesium, dengan tebal lempeng harus tepat 4 mm. Lempeng harus diinkubasikan dalam inkubator dengan suhu kamar 35°C. Pada temperatur lebih dari 35°C mungkin tidak dapat memperlihatkan *Staphylococcus aureus* yang resisten metisilin (Edberg, 1986).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat) dapat dilakukan dengan dua cara seperti berikut ini :

- a) Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (Nasional Committee for Clinical Laboratory Standard). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten (Dzen dkk, 2003).
- b) Cara Joan – Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan – Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen dkk, 2003).

Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran

molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz dkk, 2001).

Interpretasi terhadap hasil uji difusi baru didasarkan pada perbandingan terhadap metode dilusi. Beberapa data perbandingan bisa digunakan sebagai standar referensi. Grafik regresi linier dapat menunjukkan hubungan antara log KHM pada cara dilusi dan diameter zona hambatan standar bagi obat yang sama. Daerah hambatan sekitar cakram yang berisi sejumlah tertentu antimikroba tidak mencerminkan kepekaan pada obat dengan konsentrasi yang sama per mililiter media, darah atau urin (Jawetz dkk, 2001).

2.5.3 Metode Bioautografi

Bioautografi adalah metode yang digunakan dalam pencarian antibiotik baru dengan cara melokalisasi aktivitas antibakteri kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengerjaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Metabolit bioautografi dengan aktivitas antibakteri diidentifikasi sebagai zona bening MHA plate yang mengandung inokulum bakteri (Akhyar, 2010; Pawle dan Singh 2014). Metode bioautografi dibedakan menjadi 3 bagian yakni bioautografi kontak, langsung, dan perendaman.

Bioautografi kontak Bioautografi kontak yaitu metode bioautografik dimana lempeng kromatogram yang sudah terbebas dari eluen diletakkan tengkurap diatas meja yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Zat kandungan dibiarkan berdifusi 15-30 menit pada suhu 0-5°C, lalu plat kromatogram diangkat, media yang telah berisi kandungan zat dan mikroba uji yang telah berdifusi diinkubasi. Pengamatan dilakukan pada bercak yang berisi zat kandungan. Jika tidak ada pertumbuhan pada wilayah bercak itu yang ditandai spot jernih pada sekitar wilayah bercak berarti zat kandungan memiliki bioaktivitas antimikroba. Pengamatan bias dilakukan secara visual biasa atau dengan menggunakan indikator yang berubah warna akibat aktivitas pertumbuhan mikroba uji.

Bioautografi langsung menggunakan media cair yang telah diinokulasi dengan mikroba uji diratakan pada lempeng kromatografi yang mengandung senyawa ekstrak, selanjutnya diinkubasi. Pengamatan ada tidaknya pertumbuhan mikroba uji

hanya dapat dilakukan dengan bantuan zat indikator. Umumnya yang digunakan adalah garam tetrazolium (TNBT) dan methyl thiazolyl tetrazolium (MTT). Garam tetrazolium akan diubah menjadi senyawa formasan yang berwarna oleh aktivitas dehidrogenase yang dilepaskan oleh mikroba uji.

Bioautografi perendaman dengan cara plat kromatogram dibenamkan pada media kemudian dibiarkan selama 4 jam pada suhu kamar atau freezer, sesudah itu dilakukan inokulasi dan inkubasi. Pengamatan ada tidaknya pertumbuhan mikroba uji dilakukan secara visual biasa. Zona jernih menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroba uji oleh zat aktif yang terkandung dalam zona tersebut.

2.6 Ekstraksi

2.6.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. (Depkes RI, 2014).

Ekstrak cair adalah sediaan cair simplisia nabati, yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi, tiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat. (Depkes RI, 2014).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes RI, 1979).

Ekstraksi merupakan penarikan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyyari tertentu. Terdapat beberapa macam metode ekstraksi, diantaranya adalah maserasi, perkolasi, dan sokletasi. Untuk mengekstraksi senyawa kimia yang ada dalam tumbuhan terlebih dahulu bahan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan derajat halus tertentu lalu diekstraksi

dengan pelarut yang sesuai. Untuk mendapatkan sari yang kental dapat dilakukan dengan menguapkan hasil ekstraksi dengan bantuan *rotary evaporator* (Harborne, 1987).

2.6.2 Proses Ekstraksi

A. Cara dingin

(1) Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

(2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*Exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

B. Cara panas

(1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

(2) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

(3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI, 2000).

(4) Infus

Infus adalah maserasi dengan pelarut air dan temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam pengangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

(5) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (>30°C) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

(6) Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian. Destilasi uap, bahan (simplisia) benar-benar tidak tercelup ke air yang mendidih, namun dilewati uap air sehingga senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi. Destilasi uap dan air, bahan (simplisia) bercampur sempurna atau sebagian dengan air mendidih, senyawa kandungan menguap tetap kontinu ikut terdestilasi (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah secara ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara memasukkan sepuluh bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari tujuh puluh lima bagian, ditutup dan dibiarkan selama lima hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam

bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan (Depkes RI, 1986).

2.7 Pelarut

Pemilihan pelarut merupakan faktor yang menentukan dalam ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat menarik komponen aktif dari campuran. Hal-hal penting yang harus diperhatikan dalam memilih pelarut adalah selektivitas, sifat pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi, tidak bersifat racun, mudah diuapkan dan harganya relatif murah. Perendaman suatu bahan dalam pelarut dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel dalam tiga tahapan, yaitu masuknya pelarut kedalam dinding sel tanaman atau pembengkakan sel, kemudian senyawa yang terdapat dalam dinding sel akan terlepas dan masuk ke dalam pelarut, diikuti oleh difusi senyawa yang terekstraksi oleh pelarut keluar dari dinding sel.

Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan etil asetat. Etil Asetat merupakan senyawa organik berumus molekul $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ adalah zat sintesis dari ethanol dan asam asetat dengan katalis asam sulfat melalui proses esterifikasi. Etil asetat mempunyai massa molar 88,12g/mol. Senyawa ini berwujud cairan tidak berwarna dan memiliki aroma yang khas (Dutia, 2004). Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar. Pelarut ini memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu 77°C sehingga memudahkan pemisahan minyak dari pelarutnya ketika proses destilasi (Susanti dkk, 2012).

Sifat etil asetat adalah pelarut volatil, biasanya sebagai pelarut organik, pelarut dalam makanan dan ekstraksi produk farmasi. Dalam industri, etil asetat digunakan sebagai pelarut untuk memproduksi resin, tinta dll (Chien dkk, 2005). Selain kegunaanya sebagai pelarut etil asetat juga berfungsi sebagai bahan adiktif yang dapat meningkatkan oktan pada bensin serta dapat berguna sebagai bahan baku serbaguna (Azura dkk, 2015).

Tabel II.4 Sifat Fisika Etil Asetat (Azura dkk, 2015)

Sifat Fisika	Keterangan
Wujud	Cairan bening
Berat molekul	88,105 gr/mol
Densitas	0,897 gr/ml
Titik leleh	-83°C
Titik didih	77,1 °C
Titik nyala	-4 °C

(Data diambil pada keadaan standar 25 °C, 100 Kpa)

2.8 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dan mengetahui kuantitasnya yang menggunakan. Fase diam yang digunakan berupa padatan dan fase gerak yang digunakan dapat berupa cairan dan gas. Zat terlarut diadsorpsi oleh permukaan partikel padat . Prinsip KLT adalah adsorpsi dan partisi dimana adsorpsi adalah penyerapan pada permukaan, sedangkan partisi adalah penyebaran atau kemampuan suatu zat yang ada dalam larutan untuk berpisah kedalam pelarut yang digunakan (Soebagio, 2002).

2.8.1 Fase Diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silica dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah adsorpsi dan partisi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Tabel II.5 Penjerap fase diam yang digunakan pada KLT.

Penjerap	Mekanisme Sorpsi	Penggunaan
Silica Gel	Adsorpsi	Asam amino, hidrokarbon, vitamin, alkaloid
Silica modifikasi dengan hidrokarbon	Partisi termodifikasi	Senyawa-senyawa non polar
Serbuk selulosa	Partisi	Asam amino, nukleotida, karbohidrat
Alumina	Adsorpsi	Hidrokarbon, ion logam, pewarna makanan, alkaloid
Kieselgur	Partisi	Gula, asam-asam lemak
Selulosa Penukar ion	Pertukaran Ion	Asam nukleat, nukleotida, halide dan ion-ion logam
Gel Sephadex	Eksklusi	Polimer, protein, kompleks logam
β -siklodekstrin	Interaksi adsorpsi stereospesifik	Campuran enansiomer

2.8.2 Fase Gerak

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Gandjar dan Rohman, 2007).

Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan. Pemisahan yang menggunakan fase diam polar seperti silica gel, polaritas fase

gerak akan menentukan kecepatan migrasi solute yang berarti juga menentukan nilai R_f (Gandjar dan Rohman, 2007).

Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzene akan meningkatkan harga R_f secara signifikan. Solut-solut ionik dan solute-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dan methanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau ammonia masing-masing akan meningkatkan solute-solut yang bersifat basa dan asam (Gandjar dan Rohman, 2007).

